

网络出版时间: 2019-5-9 10:20 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20190506.1438.002.html>

PGE2/PGE2-R 介导的 RAS/ERK 及 PI3K/AKT 信号途径与子宫肌瘤发病机制的研究

柯小平¹, 李经纬^{1,2}, 李莉^{1,2}, 刘茗敏¹

摘要 目的 探讨前列腺素 E2 (PGE2) /前列腺素 E2 受体 (PGE2-R) 介导的 RAS/ERK 及 PI3K/AKT 信号途径与子宫肌瘤发病机制的关联。方法 收集 30 例子子宫肌瘤和其邻近正常的平滑肌组织, Real-time PCR 检测样本 PGE2-R (EP1) 表达, Western blot 检测 PGE2 和 PGE2-R (EP1) 的表达; 培养子宫肌瘤原代细胞, 分别加入 PGE2-R (EP1) 抑制剂 sc-51322 或激动剂 17-PT-PGE2, 分为原代细胞组、原代 + sc-51322 组和原代 + 17-PT-PGE2 组; 采用 CCK8 检测细胞增殖; RT-PCR 检测增殖细胞核抗原 (PCNA)、转化生长因子 β (TGF- β)、胰岛素样生长因子 1 (IGF-1) 的表达; Western blot 检测 PGE2、PGE2-R (EP1)、PCNA、TGF- β 、IGF-1、蛋白激酶 B (AKT)、p-AKT、细胞外信号调节激酶 (ERK) 1/2、p-ERK1/2 的表达。结果 子宫肌瘤的 PGE2-R (EP1) 的 mRNA 表达量显著高于平滑肌组织 ($P < 0.01$)。子宫肌瘤组织 PGE2 和 PGE2-R (EP1) 的蛋白表达量亦显著高于正常平滑肌组织 ($P < 0.01$)。在培养 72 h 后, 与原代细胞组比较, 原代 + sc-51322 组细胞增殖受到显著抑制 ($P < 0.01$), 而原代 + 17-PT-PGE2 组中细胞的增殖活性显著增加 ($P < 0.01$)。原代 + sc-51322 组中细胞 PCNA、TGF- β 、IGF-1 mRNA 表达量显著低于原代细胞组, 原代 + 17-PT-PGE2 组中细胞 PCNA、TGF- β 、IGF-1 mRNA 表达量显著高于原代细胞组。原代 + sc-51322 组中的细胞 PGE2、PGE2-R (EP1)、PCNA、TGF- β 、IGF-1、p-AKT 和 p-ERK1/2 蛋白表达量显著低于原代细胞组, 原代 + 17-PT-PGE2 组 PGE2、PGE2-R (EP1)、PCNA、TGF- β 、IGF-1、p-AKT 和 p-ERK1/2 蛋白表达量显著高于原代细胞组 ($P < 0.01$)。结论 PGE2 和 PGE2-R (EP1) 通过介导的 RAS/ERK 及 PI3K/AKT 信号途径来参与调控子宫肌瘤发病。**关键词** PGE2-R; PI3K/AKT 信号途径; RAS/ERK 信号途径; 子宫肌瘤

中图分类号 R 575.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2019)05-0673-05
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.05.002

前列腺素是花生四烯酸的代谢产物, PGE2 (prostaglandin E2) 是环氧合酶促进花生四烯酸代谢所形成的产物^[1]。PGE2 受体分为 EP1、EP2、EP3 和 EP4 四种亚型, 介导不同的 PGE2 依赖性生物学效应^[2]。PGE2 可与跨膜 G 蛋白偶联的受体 EPs 相互作用, 并激活或阻断胞内第二信使。研究^[3]证实, 子宫肌肉中会有 EP1 受体的表达, 通过提高胞内钙离子浓度和激活蛋白激酶 C 而发挥作用。研究^[4]表明, 子宫肌瘤的发生发展与多种生长因子有关, 其中包括表皮生长因子、胰岛素样生长因子 1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1) 和血小板生长因子等, 这些生长因子会促进肌瘤细胞的有丝分裂及生长, 其中 IGF-1 具有刺激子宫肌层增生功能的调节因子。活化 G 蛋白是 G 蛋白偶联受体受体信号转导的第一步, 其中最主要的信号通路为 PI3K/AKT 和 Ras-Raf-ERK 信号通路^[5]。在 PI3K/AKT 信号通路中, 磷脂酰肌醇-3 激酶 (phosphoinositide 3 kinase, PI3K) 作为细胞内的第二信使^[6]。丝/苏氨酸蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB/AKT) 是 PI3K 信号转导途径中的一个重要的下游靶激酶。PI3K/AKT 信号通路参与细胞生长、增殖、分化信号调节^[7]。在 Ras-Raf-ERK 信号通路中, 生长因子与受体结合后激活酪氨酸激酶并传递给 Ras 蛋白, Ras-GTP 直接与 Raf 相结合激活^[8]。细胞外信号调节激酶 (extracellular regulated protein kinase, ERK) 包括 ERK1 和 ERK2, 与细胞的增殖分化密切相关^[9]。RAS/ERK 及 PI3K/AKT 信号级联传导, 参与调控细胞周期启动、增殖或凋亡效应^[10]。

该研究旨在探究 PGE2 及其受体介导的 RAS/ERK 和 PI3K/AKT 两条细胞增殖信号途径在子宫肌瘤发病机制方面的作用。收集子宫肌瘤和其邻近正常平滑肌组织, Real-time PCR 检测 PEG2-R (EP1) 的表达, Western blot 检测 PGE2 和 PGE2-R 的表达; 经 PGE2-R 激动剂或抑制剂预处理的子宫肌瘤细胞后, 测定细胞的增殖效应, 并采用 Real-time PCR 及 Western blot 检测 PGE2/PGE2-R 介导的 RAS/ERK 途径中和 PI3K/AKT 途径信号分子

2018-12-03 接收

基金项目: 上海市卫生局科研课题 (编号: 20134077)

作者单位: ¹ 上海市杨浦区中心医院 (同济大学附属杨浦医院) 妇产科, 上海 200090

² 同济大学医学院研究生院, 上海 200090

作者简介: 柯小平, 女, 主治医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: kexiaoping@126.com

Ras、ERK、PI3k、AKT、IGF-1、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 及增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 等指标。探究 PGE2/PGE2R 介导的子宫肌瘤增殖信号及增殖效应, 为子发病机制提供研究基础。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选择2014年1月~2015年1月同附属杨浦医院收治的腹腔镜下行子宫肌瘤切除术的30例患者, 年龄30~52(40.66 \pm 5.78)岁, 近6个月内未服用激素类药物。子宫肌瘤和平滑肌经病理学确诊, 无其他并发症。选取手术切除的肌瘤组织为实验组, 肌瘤附近0.5 cm的子宫平滑肌组织(视为健康组)为对照组。经过患者同意和本院伦理委员会批准。所收集组织一部分保存于液氮中用于后续蛋白提取和RNA抽提, 另一部分剪成小片, 用于细胞培养。

1.2 实验试剂 CCK-8试剂盒购自美国SAB公司, 货号CP002; SYBR Green PCR试剂盒购自美国Thermo公司, 货号#K0223; 逆转录试剂盒购自立陶宛Fermentas公司, 货号#K1622; BCA蛋白定量试剂盒购自美国Thermo公司, 货号PICPI23223; RIPA组织细胞快速裂解液购自北京Solarbio公司, 货号R0010; PGE2、PGE2-R (EP1)、PCNA、TGF- β 、IGF-1、p-AKT、AKT、p-ERK1/2、ERK1/2抗体和二抗均购自美国CST公司。其他试剂均为分析纯。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组及给药 液氮中子宫肌瘤组织和邻近平滑肌组织取出, RT-PCR检测30对样本PGE2-R (EP1)的表达, Western blot检测PGE2和PGE2-R (EP1)的表达。培养子宫肌瘤原代细胞, 同时加入PGE2-R (EP1受体)抑制剂sc-51322或激动剂17-PT-PGE2, 分为原代细胞组、原代+sc-51322组和原代+17-PT-PGE2组。

1.3.2 细胞培养 子宫肌瘤组织置于1%双抗(青链霉素混合液)的HBSS中; 0.4%胶原酶8 ml(内含DNase I) 37 $^{\circ}$ C摇床消化; 消化结束后用含10%的DMEM-F12重悬细胞, 置细胞培养瓶中, 置于37 $^{\circ}$ C、5% CO₂的细胞培养箱中孵育培养。每隔20 min将没有贴壁的细胞转移到新的培养瓶中, 重复3次, 第1次贴下来的即为平滑肌细胞, 经过3次贴壁仍未贴壁的细胞即为平滑肌细胞。此贴壁法是根据时间差采用的对成纤维细胞和平滑肌细胞进行的分离。24 h后健康细胞均已贴壁; 48 h后贴壁细胞形

成小的克隆。鉴定子宫平滑肌细胞的标准采用 α -actin免疫组化染色, 培养子宫肌瘤细胞同平滑肌细胞。

1.3.3 CCK-8检测子宫肌瘤原代细胞的增殖活性

将处于对数生长期的子宫肌瘤原代细胞经胰蛋白酶消化, 显微镜下计数后制成 3×10^4 个/ml的细胞悬液。分别取100 μ l至96孔培养板, 每组细胞每块板接种3个同样的孔作为复孔, 3×10^3 个细胞/孔, 以100 μ l培养液做空白对照, 37 $^{\circ}$ C培养过夜。实验分组如下: ①原代细胞: 100 μ l完全培养基正常培养; ②原代细胞+sc-51322: 加入终浓度为10 μ mol/L sc-51322(PGE2-R抑制剂); ③原代细胞+17-PT-PGE2: 加入终浓度为5 μ mol/L 17-PT-PGE2(PGE2-R激动剂)。分别在共培养0、24、48、72 h后, 按1:10体积比混合细胞计数试剂盒(CCK-8)和无血清必需基本培养基, 每孔400 μ l加入待测孔中, 在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养箱中孵育1 h; 孵育1 h后, 用酶标仪测定450 nm波长吸光度(absorbance, A)值, 并记录每块板的数值。

1.3.4 Real-time PCR 取子宫肌瘤组织和平滑肌组织各10 mg, TRIzol提取总RNA, 将RNA逆转录程cDNA。设计PGE2-R引物: 上游引物: 5'-CACCT-TCTTTGGCGGCTCTC-3'; 下游引物: 5'-CGACAC-CACCATGATACCGA-3' 扩增片段长度100 bp。以GAPDH为内参照, 上游引物: 5'-AATCCCATCAC-CATCTTC-3'; 下游引物: 5'-AGGCTGTTGTCATACT-TC-3' 扩增片段长度218 bp。PCR反应总体积25 μ l, 反应程序: 95 $^{\circ}$ C, 10 min(95 $^{\circ}$ C, 15 s; 60 $^{\circ}$ C, 45 s) \times 40; 95 $^{\circ}$ C, 15 s; 60 $^{\circ}$ C, 1 min; 95 $^{\circ}$ C, 15 s; 60 $^{\circ}$ C, 15 s。数据采用仪器自带软件分析(ABI Prism 7300 SDS软件)。

1.3.5 Western blot实验 将需要抽提蛋白的细胞或组织, 加入含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的裂解液, 4 $^{\circ}$ C充分裂解细胞, 95 $^{\circ}$ C以上加热10 min, 12 000 r/min离心10 min, 取上清液, 进行蛋白质定量后贮存于-80 $^{\circ}$ C冰箱。使用BCA蛋白浓度试剂盒对蛋白浓度进行定量。

选取5%的浓缩胶和10%的分离胶, 取20 μ l蛋白样品进行上样, 电泳结束后, 将蛋白转移至PVDF膜上。丽春红染色检测转膜成功。使用10%的脱脂乳粉溶液进行封闭2 h后, 加入稀释的一抗: PGE2 1:300, PGE2-R 1:500, PCNA 1:1 000, TGF- β 1:300, IGF-1 1:2 000, AKT 1:1 000, p-AKT 1:1 000, p-ERK1/2 1:1 000, ERK1/2 1:1 000,

GAPDH 1 : 2 000。孵育一抗的膜用 TBST 洗 3 次, 每次 15 min 按照 1 : 1 000 稀释标记的二抗与膜 37 °C 孵育 2 h。用 TBST 洗涤 3 次, 每次 5 min。使用化学发光法对蛋白进行显色。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行数据分析, 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 RT-PCR 检测 30 对子宫肌瘤患者和健康临床样本的 PGE2-R (EP1) 表达 RT-PCR 检测 30 对子宫肌瘤和子宫平滑肌的结果显示, 子宫肌瘤组织的 PEG2-R (EP1) mRNA 的表达量为 (0.00467 ± 0.00137) , 子宫平滑肌组织的表达量 (0.00169 ± 0.00064) 。结果显示: 子宫肌瘤组 PGE2-R (EP1) 的 mRNA 表达量显著高于子宫平滑肌组 ($P < 0.01$)。子宫肌瘤的发生会导致 PGE2 受体的基因表达量升高。

2.2 Western blot 检测 4 对样本 PGE2 和 PGE2-R (EP1) 的表达 如图 1 和表 1 所示, Western blot 检测 4 对样本 PGE2 和 PGE2-R (EP1) 的结果表明, 子宫肌瘤组织的 PGE2 和 PGE2-R (EP1) 的蛋白表达量均显著高于子宫平滑肌组织 ($P < 0.01$), 这与基因的检测结果相一致。

2.3 CCK-8 检测子宫肌瘤原代细胞的增殖活性 如表 2 所示, CCK8 结果显示, 与原代细胞组比较, 随着培养时间的延长, 原代 + sc-51322 组中的细胞增殖显著受到抑制 ($P < 0.01$), 而原代 + 17-PT-PGE2 组中的细胞的增殖活性显著增加 ($P < 0.01$), 并且在培养 72 h 后, sc-51322 对细胞增殖的抑制及 17-PT-PGE2 对细胞增殖的促进均达到最大值, 说明

子宫肌瘤原代细胞的增殖与 PGE2-R 的表达密切相关。

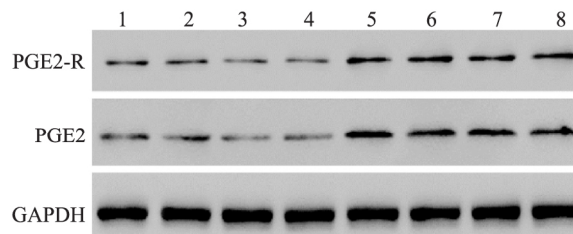


图 1 Western blot 检测 4 对样本 PGE2 和 PGE2-R (EP1) 的表达
1: 子宫平滑肌组 1; 2: 子宫平滑肌组 2; 3: 子宫平滑肌组 3; 4: 子宫平滑肌组 4; 5: 子宫肌瘤组 1; 6: 子宫肌瘤组 2; 7: 子宫肌瘤组 3; 8: 子宫肌瘤组 4

表 1 Western blot 检测 4 对样本 PGE2 和 PGE2-R (EP1) 的表达 ($n = 4, \bar{x} \pm s$)

组别	PGE2-R	PGE2
子宫平滑肌	0.166 ± 0.039	0.226 ± 0.066
子宫肌瘤	$0.350 \pm 0.027^{**}$	$0.501 \pm 0.035^{**}$

与子宫平滑肌组比较: $^{**} P < 0.01$

2.4 RT-PCR 检测子宫肌瘤原代细胞的 PCNA、TGF- β 、IGF-1 基因表达 如表 3 所示, RT-PCR 检测 PCNA、TGF- β 、IGF-1 的表达结果显示, 原代 + sc-51322 组中的细胞 PCNA、TGF- β 、IGF-1 的 mRNA 表达量显著低于原代细胞组, 原代 + 17-PT-PGE2 组中的细胞 PCNA、TGF- β 、IGF-1 的 mRNA 表达量显著高于原代细胞组。以上结果说明子宫肌瘤原代细胞中 PCNA、TGF- β 、IGF-1 的 mRNA 表达量受到 PGE2-R 的调控, 并会随着 PGE2-R 含量的增加而上调。

2.5 Western blot 检测子宫肌瘤原代细胞相关蛋白的表达 如图 2 和表 4 所示, Western blot 检测细胞中相关蛋白的结果显示, 原代 + sc-51322 组中的

表 2 CCK-8 检测子宫肌瘤原代细胞的增殖活性 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

组别	$A_{450\text{nm}}$ 值			
	0 h	24 h	48 h	72 h
原代细胞	0.288 ± 0.012	0.342 ± 0.014	0.569 ± 0.021	0.805 ± 0.009
原代 + sc-51322	0.227 ± 0.009	0.314 ± 0.006	$0.449 \pm 0.005^*$	$0.517 \pm 0.018^{**}$
原代 + 17-PT-PGE2	0.227 ± 0.006	0.363 ± 0.007	$0.657 \pm 0.028^*$	$1.016 \pm 0.015^{**}$

与原代细胞组比较: $^* P < 0.05, ^{**} P < 0.01$

表 3 RT-PCR 检测子宫肌瘤各组细胞 PCNA、TGF- β 、IGF-1 基因表达 ($n = 4, \bar{x} \pm s$)

组别	PCNA mRNA 表达水平	TGF- β mRNA 表达水平	IGF-1 mRNA 表达水平
原代细胞	0.048 ± 0.004	0.006 ± 0.001	0.002 ± 0.000
原代 + sc-51322	$0.021 \pm 0.000^{**}$	$0.004 \pm 0.000^{**}$	$0.00038 \pm 0.00006^{**}$
原代 + 17-PT-PGE2	$0.085 \pm 0.007^{**}$	$0.018 \pm 0.002^{**}$	$0.006 \pm 0.001^{**}$

与原代细胞组比较: $^{**} P < 0.01$

细胞 PGE2、PGE2-R(EP1)、PCNA、TGF-β、IGF-1、p-AKT 和 p-ERK1/2 的蛋白表达量均显著低于原代细胞组,原代 + 17-PT-PGE2 组中的细胞 PGE2、PGE2-R(EP1)、PCNA、TGF-β、IGF-1、p-AKT 和 p-ERK1/2 的蛋白表达量均显著高于原代细胞组,说明子宫肌瘤原代细胞中 RAS/ERK 及 PI3K/AKT 信号途径受到 PGE2 及其受体 PGE2-R(EP1) 的调控。

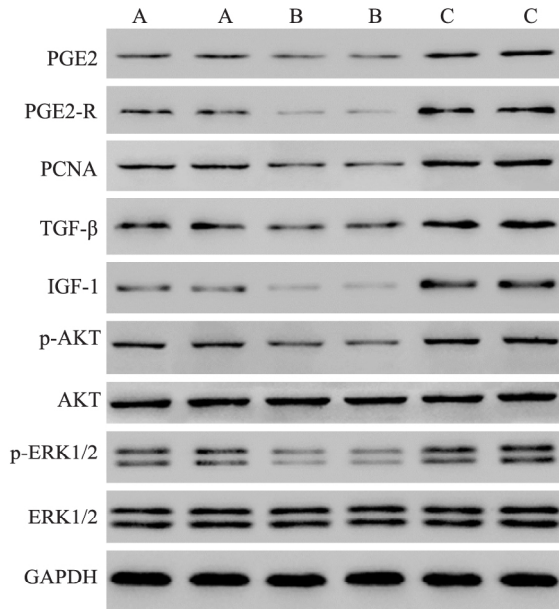


图2 Western blot 检测子宫肌瘤各组细胞中相关蛋白的表达

A: 子宫肌瘤原代细胞; B: 原代 + sc-51322 细胞; C: 原代 + 17-PT-PGE2 细胞

表4 Western blot 检测各组细胞中 PGE2、PGE2-R(EP1)、PCNA、TGF-β、IGF-1、p-AKT、p-ERK1/2 的表达(n = 2, $\bar{x} \pm s$)

蛋白	原代细胞组	原代 + sc-51322 组	原代 + 17-PT-PGE2 组
PGE2	0.299 ± 0.010	0.211 ± 0.019 **	0.434 ± 0.031 **
PGE2-R(EP1)	0.336 ± 0.002	0.089 ± 0.019 **	0.562 ± 0.016 **
PCNA	0.513 ± 0.012	0.282 ± 0.060 **	0.698 ± 0.022 **
TGF-β	0.539 ± 0.015	0.385 ± 0.014 **	0.625 ± 0.054 **
IGF-1	0.245 ± 0.005	0.076 ± 0.085 **	0.563 ± 0.025 **
p-AKT	0.445 ± 0.026	0.289 ± 0.051 **	0.574 ± 0.002 **
p-ERK1/2	0.567 ± 0.007	0.288 ± 0.012 **	0.748 ± 0.068 **

与原代细胞组比较: **P < 0.01

3 讨论

目前,对于子宫肌瘤的病因尚不清楚,推测其可能与卵巢内分泌功能、孕激素受体、孕激素、生长因子等因素相关^[11]。本研究通过收集子宫肌瘤和正常子宫平滑肌组织,结果显示子宫肌瘤的 PGE2-R(EP1) 的 mRNA 表达量和蛋白表达量均显著高于正常平滑肌组织(P < 0.01)。这说明子宫肌瘤的发病

与组织中 PGE2 和 PGE2-R(EP1) 的基因和蛋白的含量有关联,推测组织中 PGE2 和 PGE2-R(EP1) 的上调会促使子宫肌瘤的发生与发展。

研究^[12]表明,子宫肌瘤的发生发展与多种生长因子有关,其中包括 TGF-β、IGF-1 和 PCNA 等,这些生长因子会促进肌瘤细胞的有丝分裂及生长,其中 IGF-1 的促进功能最为显著。本研究以子宫肌瘤原代细胞为靶细胞,加入 PGE2-R(EP1 受体) 抑制剂 sc-51322 或激动剂 17-PT-PGE2,测定了细胞的增殖活性以及 PCNA、TGF-β、IGF-1 的基因和蛋白表达情况。本研究中,与原代细胞组比较,原代 + sc-51322 组中的细胞增殖显著受到抑制(P < 0.01),说明抑制剂 sc-51322 的加入,抑制了 PGE2-R(EP1 受体) 的表达,从而抑制了子宫肌瘤原代细胞的增殖活性。同时,本研究还显示,原代 + 17-PT-PGE2 组中的细胞的增殖活性显著高于原代细胞组,说明激动剂 17-PT-PGE2 的加入激活了 PGE2-R(EP1 受体) 的表达,从而增强了子宫肌瘤原代细胞的增殖活性。为了探究 PGE2-R(EP1 受体) 的表达与相关生长因子分泌的关系,本研究测定了 PCNA、TGF-β、IGF-1 的基因及蛋白表达,结果显示,原代 + sc-51322 组中的细胞 PCNA、TGF-β、IGF-1 的 mRNA 和蛋白表达量显著低于原代细胞组,而原代 + 17-PT-PGE2 组中的蛋白的表达量显著高于原代细胞组。以上结果说明,子宫肌瘤细胞中 PGE2-R(EP1 受体) 的表达与相关的生长因子的分泌呈正相关性。本研究同时显示,子宫肌瘤组织中 p-AKT 和 p-ERK1/2 均过度表达,且 p-AKT 和 p-ERK1/2 的表达与 PGE2-R(EP1 受体) 的调控密切相关,证实 PGE2-R(EP1 受体) 参与了子宫肌瘤的发生与发展。

体内和体外实验证实, PGE2 和 PGE2-R(EP1) 参与调控了子宫肌瘤的发生与发展,并且参与调控子宫肌瘤原代细胞中 RAS/ERK 及 PI3K/AKT 信号途径,为子宫肌瘤的发病机制提供了可靠的理论依据。

参考文献

- [1] Trifan O C, Hla T. Cyclooxygenase-2 modulates cellular growth and promotes tumorigenesis [J]. J Cell Mol Med 2003, 7(3): 207 - 22.
- [2] Takeuchi K. Gastric cytoprotection by prostaglandin E2 and prostacyclin: relationship to EP1 and IP receptors [J]. J Physiol Pharmacol 2014, 65(1): 3 - 14.
- [3] Woodward D F, Jones R L, Narumiya S. International union of basic and clinical pharmacology. LXXXIII: classification of prostanoïd receptors, updating 15 years of progress [J]. Pharmacol Rev 2011, 63(3): 471 - 538.

- [4] Ciarmela P, Islam M S, Reis F M, et al. Growth factors and myometrium: biological effects in uterine fibroid and possible clinical implications [J]. *Hum Reprod Update* 2011, 17: 772–90.
- [5] McCubrey J A, Steelman L S, Chappell W H, et al. Mutations and deregulation of Ras/Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR cascades which alter therapy response [J]. *Oncotarget*, 2012, 3(9): 954–87.
- [6] Makker A, Goel M M, Mahdi A A, et al. PI3K/Akt/Mtor signaling & its regulation tumor suppressor genes PTEN & LKB1 in human uterine leiomyomas [J]. *Indian J Med Res*, 2016, 143 (supplement): S112–9.
- [7] Coffey J C, Wang J H, Smith M J, et al. Phosphoinositide 3 kinase accelerates postoperative tumor growth by inhibiting apoptosis and enhancing resistance to chemotherapy induced apoptosis novel role for an old enemy [J]. *J Biol Chem* 2005, 280(22): 20968–77.
- [8] Muiyal J P, Kotnala S, Bhardwaj H, et al. Effect of recombinant human keratinocyte growth factor in inducing Ras-Raf-Erk pathway-mediated cell proliferation in emphysematous mice lung [J]. *Inhal Toxicol* 2014, 26(13): 761–71.
- [9] Hong S K, Wu P K, Karkhanis M, et al. ERK1/2 can feedback regulate cellular MEK1/2 levels [J]. *Cell Signal* 2015, 27(10): 1939–48.
- [10] de Sousa Mesquita A P, de Araújo Lopes S, Pernambuco Filho P C A, et al. Acquisition of anoikis resistance promotes alterations in the Ras/ERK and PI3K/Akt signaling pathways and matrix remodeling in endothelial cells [J]. *Apoptosis* 2017, 22(9): 1116–37.
- [11] Orciani M, Caffarini M, Biagini A, et al. Chronic inflammation may enhance leiomyoma development by the involvement of progenitor cells [J]. *Stem Cells Int* 2018, 2018: 1716246.
- [12] Gkioka E, Msaouel P, Philippou A, et al. Review: the role of insulin-like growth factor-1 signaling pathways in uterine leiomyoma [J]. *In Vivo* 2015, 29(6): 637–49.

The correlation between PGE2/PGE2-R-mediated RAS/ERK and PI3K/AKT signaling pathways and the pathogenesis of uterine fibroids

Ke Xiaoping¹, Li Jingwei^{1,2}, Li Li^{1,2}, et al

(¹Dept of Obstetrics and Gynecology, Yangpu Hospital, Tongji University, Shanghai 200090;

²Graduate School of Medicine, Tongji University, Shanghai 200090)

Abstract Objective To investigate the correlation between PGE2/PGE2-R-mediated RAS/ERK and PI3K/AKT signaling pathways in the pathogenesis of uterine fibroids. **Methods** Samples of patients with uterine fibroids and healthy uterine smooth muscle tissues were collected. Real-time PCR was used to detect the expression of PGE2-R (EP1) in 30 pairs of samples. Western blot was used to detect the expression of PGE2 and PGE2-R (EP1) in 4 pairs of samples. The primary cells of uterine fibroids were cultured and the PGE2-R (EP1) inhibitor sc-51322 or agonist 17-PT-PGE2 were added, and they were divided into primary cell group, primary + sc-51322 group, and primary + 17-PT-PGE2 group. Cell proliferation was detected by CCK8 and the expression of PCNA, TGF- β , and IGF-1 were detected by RT-PCR. Western blot was used to detect PGE2, PGE2-R (EP1), PCNA, TGF- β , IGF-1, AKT, p-AKT, ERK1/2, and p-ERK1/2 expression. **Results** The mRNA expression level of PGE2-R (EP1) in patients with uterine fibroids was significantly higher than that of uterine smooth muscle tissues ($P < 0.01$). The protein expression levels of PGE2 and PGE2-R (EP1) in patients with uterine fibroids were significantly higher than those in uterine smooth muscle tissues ($P < 0.01$). At 72 h culture, compared with primary cell group, the cell proliferation was significantly inhibited in primary + sc-51322 group ($P < 0.01$), while cell proliferation activity in the primary + 17-PT-PGE2 group was significantly increased ($P < 0.01$). The mRNA expression levels of PCNA, TGF- β , and IGF-1 in primary + sc-51322 group were significantly lower than those of the primary cell group. The mRNA expression levels in primary + 17-PT-PGE2 group were significantly higher than those of primary cell group. The protein expression levels of PGE2, PGE2-R (EP1), PCNA, TGF- β , IGF-1, p-AKT, and p-ERK1/2 in cells in primary + sc-51322 group were significantly lower than those of the primary cell group, and the protein expression levels in the primary + 17-PT-PGE2 group were significantly higher than those of primary cell group. **Conclusion** The RAS/ERK and PI3K/AKT signaling pathways mediated by PGE2 and PGE2-R may be involved in the pathogenesis of uterine fibroids.

Key words PGE2-R; PI3K/AKT signaling pathways; RAS/ERK signaling pathways; uterine fibroids